

ADSORBENT FOR PURIFYING HUMOR

Publication number: JP10248927
Publication date: 1998-09-22
Inventor: FUJITA KOUSUKE; OKUYAMA TSUTOMU;
TAKADA SATORU
Applicant: KANEGAFUCHI CHEMICAL IND
Classification:
- international: G01N1/10; A61M1/36; B01J20/24; B01J20/26;
G01N1/28; G01N30/00; G01N1/10; A61M1/36;
B01J20/22; G01N1/28; G01N30/00; (IPC1-7):
A61M1/36; B01J20/24; B01J20/26; G01N1/10;
G01N1/28; G01N30/00
- European:
Application number: JP19970369666 19971225
Priority number(s): JP19970369666 19971225; JP19970000600
19970107

Report a data error here

Abstract of JP10248927

PROBLEM TO BE SOLVED: To enable fast removal of desired substances by arranging a carrier to generate a flow of humor piercing the carrier when the flow of the humor exists on the perimeter thereof. **SOLUTION:** For example, carboxymethyl cellulose is mixed with about 6 normal of a NaOH aqueous solution and small particles of porous cellulose with an average particle size of about 25×10^{-6} m are mingled into the mixture to agitate. The mixture thus obtained is injected into an ethanol solution together with a compressed nitrogen gas through a nozzle to obtain a carrier with the average particle size of 100×10^{-6} m. A liquid in the carrier is replaced with ethanol to be freeze dried. This carrier is caused to react with epichlorohydrine at about 45 deg.C for two hour and then, with dextran sulfate at about 40 deg.C for 24 hour to obtain an adsorbent with the dextran sulfate immobilized thereon. The adsorption rate of the adsorbent is about 51%, about 0% and about 0% for low density lipoprotein-cholesterol, high density lipoprotein-cholesterol and albumin and has affinity to the low density lipoprotein.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-248927

(43)公開日 平成10年(1998)9月22日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	F I
A 6 1 M 1/36	5 4 5	A 6 1 M 1/36 5 4 5
B 0 1 J 20/24		B 0 1 J 20/24 B
20/26		20/26 H
G 0 1 N 1/10		G 0 1 N 1/10 C
1/28		30/00 C
審査請求 未請求 請求項の数 8 F D (全 10 頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願平9-369666	(71)出願人	000000941 鐘淵化学工業株式会社 大阪府大阪市北区中之島3丁目2番4号
(22)出願日	平成9年(1997)12月25日	(72)発明者	藤田 耕資 大阪府茨木市中津町20-6清風寮
(31)優先権主張番号	特願平9-600	(72)発明者	奥山 勉 神戸市兵庫区御崎本町3-3-37-305
(32)優先日	平9(1997)1月7日	(72)発明者	高田 覚 高砂市阿弥陀町地徳70-1
(33)優先権主張国	日本 (J P)	(74)代理人	弁理士 安富 康男 (外2名)

(54)【発明の名称】 体液浄化用吸着材

(57)【要約】

【課題】 目的物質を、高速に除去することができる体液浄化用吸着材を提供する。

【解決手段】 体液中の目的物質に親和性のある物質を、粒子状、スラブ状又は不定形状の担体に固定化してなる体液浄化用吸着材であって、上記担体は、その周りに体液の流れがあるとき、上記担体内を貫通する体液流が生じる構造を有するものである体液浄化用吸着材。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 体液中の目的物質に親和性のある物質を、粒子状、スラブ状又は不定形状の担体に固定化してなる体液浄化用吸着材であって、前記担体は、その周りに体液の流れがあるとき、前記担体内を貫通する体液流が生じる構造を有するものであることを特徴とする体液浄化用吸着材。

【請求項2】 担体粒子の周りに流れがあるとき、前記粒子内を貫通する流れが生じる構造を有する担体に、目的物質に親和性のある物質を固定化した請求項1記載の体液浄化用吸着材。

【請求項3】 平均粒子径が $100 \times 10^{-6} \text{m}$ 以上であって、容器に充填して線速度 $3 \times 10^{-4} \text{m/s}$ 以上で通液した場合に担体粒子内を貫通する流れが生じるものである請求項1又は2記載の体液浄化用吸着材。

【請求項4】 粒子径が $100 \times 10^{-6} \text{m}$ 以上、 $4000 \times 10^{-6} \text{m}$ 未満であって、全血と直接接するものである請求項1、2又は3記載の体液浄化用吸着材。

【請求項5】 担体粒子は、貫通孔を有するものであり、前記貫通孔の平均直径に対する前記担体粒子の平均粒子径の比が、70以下のものである請求項1、2、3又は4記載の体液浄化用吸着材。

【請求項6】 担体は、カラムに充填して、目的物質のみを含む溶液を線速度 $1 \times 10^{-4} \text{m/s}$ 以上、 $10 \times 10^{-4} \text{m/s}$ 以下の範囲で通液した場合に、理論段相当高さが0.5m以下のものである請求項1、2、3、4又は5記載の体液浄化用吸着材。

【請求項7】 請求項1、2、3、4、5又は6記載の体液浄化用吸着材を充填したことを特徴とする体液浄化用吸着器。

【請求項8】 請求項7記載の体液浄化用吸着器を用いて体液を浄化することを特徴とする体液浄化方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】本発明は、高脂血症、自己免疫疾患、免疫関連疾患等の治療において、体液浄化方法を行う場合に、目的物質を高速に除去する体液浄化用吸着材に関する。

【0002】

【従来の技術】体液中に存在する物質を除去し治療する方法として、体液中の目的物質に親和性のある物質を担体に固定化した吸着材を充填した吸着器に、体液を通液して目的物質を吸着除去する体液浄化方法が用いられている。これには、当初、活性炭、特に被覆した活性炭の粒子に全血を通液して目的物質を吸着除去する方法が用いられていた。更に、血漿分離膜の発達に伴い、分離した血漿から目的物質を吸着除去する吸着器が種々開発されてきた。患者のクオリティオブライフ(Quality of Life)の面から、治療時間は短い方が望ましい。このためには、吸着材は同じままで、操作条件

等を工夫して治療時間を短くする方法がいくつか考えられる。

【0003】まず、体外循環する体液の流量を大きくして、時間あたりに吸着材と接する体液量を大きくすることが考えられる。しかし、患者の体内から取り出して体外循環させる体液の流量を極端に大きくすることは患者のクオリティオブライフを損ねてしまう。従来、体外循環する体液の流量は $0.833 \times 10^{-6} \sim 3.33 \times 10^{-6} \text{m}^3/\text{s}$ (50~200ml/分)である。従って、体外循環する体液の流量を大きくするには限界がある。

【0004】また、吸着器容積を大きくして体液が吸着材と接する時間を長くすることが考えられる。しかし、吸着器容積を大きくするに伴い、治療中に体外に存在する体液量が大きくなって患者のクオリティオブライフを損ねてしまうため、吸着器容積を大きくするには限界がある。従来の体液浄化用の吸着器容積はせいぜい $50 \times 10^{-6} \sim 500 \times 10^{-6} \text{m}^3$ (50~500ml)であった。

【0005】次に、吸着器の静的な吸着性能を大きくすることによって治療時間を短くすることが考えられる。静的な吸着性能とは、飽和吸着量の大きさである。静的な吸着性能を大きくする方法として、吸着材あたりの吸着量を大きくすることが考えられる。吸着平衡関係に影響を及ぼすのは、目的物質に親和性のある物質と、目的物質を吸着するのに有効な接触面積である。しかし、目的物質に親和性のある物質は、その目的とする物質に親和性をもつものに限定される。しかも、体液浄化を目的とするために、生理学的な影響の小さいものに限定される。また、有効な接触面積を大きくすることも考えられるが、この接触面は、目的物質が吸着する小孔を、最低限、必要とする。従って、このような小孔を有する多孔体の接触面積は、小孔の径と数によって、上限がある。このように、上記吸着平衡関係を改良して静的な吸着性能を大きくするには限界がある。

【0006】上述したように、体液浄化方法に基づく制約のため、吸着器の容積、体液の流量、及び、静的な吸着性能を改良して吸着量を維持しつつ治療時間を短くすることは困難であった。

【0007】最後に、吸着器の動的な吸着性能を大きくすることによって治療時間を短くすることが考えられる。動的な吸着性能とは吸着速度の大きさである。動的な吸着性能を大きくする方法として、吸着材の粒子径や目的物質の粒子内拡散係数を適正化して動的な吸着性能を大きくすること等が考えられる。

【0008】まず最初の方法、即ち、吸着材の粒子径を小さくして拡散距離を小さくすることにより動的な吸着性能を大きくする方法についてであるが、吸着材の粒子径を小さくすると体液が流れる流路直径が小さくなり、かつ圧力損失も大きくなるため詰まりの原因になる可能

性があり、安全な体液浄化方法を考慮すると極端に粒子径を小さくすることはできない。実際、従来の吸着材の粒子径は、血漿灌流用の場合 $50 \times 10^{-6} \text{m}$ 以上 $1000 \times 10^{-6} \text{m}$ 未満、特に直接血液灌流用の場合 $1000 \times 10^{-6} \text{m}$ 以上 $4000 \times 10^{-6} \text{m}$ 未満であった。

【0009】第2の方法、即ち、吸着材中で目的物質を素早く移動させるために、吸着材中における目的物質の拡散係数を大きくし、動的な吸着性能を大きくする方法についてであるが、次のような理由でやはりこの方法も限界がある。拡散律速に基づく従来の体液浄化用吸着材の場合、目的とする物質が決まってしまうと、その拡散係数は吸着材の構造によって一定の値を有するので、吸着材の構造に工夫を加えることが必要となる。しかし、構造をいくら最適化しても、吸着材中における目的物質の拡散係数は、立体障害のない体液中における拡散係数を超えることはなく、この方法にも限界がある。

【0010】従って、従来の体液浄化用吸着材の場合、吸着材の粒子径及び目的物質の粒子内拡散係数を改良して動的な吸着性能を大きくするには限界があり、治療時間を短縮することは困難であった。

【0011】一方、体液浄化用吸着材に使用するには困難であるが、クロマトグラフィー用の担体では、目的物質に親和性のある物質を固定化した場合、動的な吸着性能の向上を期待できるものが存在する。

【0012】まず、動的な吸着性能に関する原理を以下

$$\frac{C}{C_0} = 1 - e^{-N\theta} \left\{ 1 + N\theta + \frac{(N\theta)^2}{2!} + \dots + \frac{(N\theta)^{N-1}}{(N-1)!} \right\}$$

【0016】

【数2】

$$t = \frac{\alpha V}{F}$$

【0017】

【数3】

$$\alpha = \frac{q_0}{C_0}$$

【0018】ここで t は、時間 [秒] である。 C は、目的物質の吸着器出口濃度 [kg/m^3] であり、時間とともに変化する。 C_0 は、吸着器に流入する目的物質の濃度 [kg/m^3] であり、一定である。 V は、吸着器の容積又は担体充填カラムの容積 [m^3] であり、一定である。 q_0 は、 C_0 に対する平衡吸着量 [kg/m^3] と呼ばれるもので、 C_0 の濃度の溶液を吸着器に通液し、吸着量が増加しなくなった状態までに吸着している量で、一定である。 F は、溶液の流量 [$\text{m}^3/\text{秒}$] であるが、使用時の吸着器内の線速度と同じになるように設定され、一定である。 N は、理論段数であるが、担

に説明する。吸着材の動的な吸着性能を示すものとして、一定濃度の目的物質を含む溶液を一定速度で通液したときの、目的物質の吸着器出口濃度の経時変化を表す破過曲線を用いるのが一般的である。使用条件における吸着器の動的な吸着性能を推定する場合、吸着器内の線速度を一定にする、つまり、吸着材の周りの流れの状態を一定にするのがよい。なお、本明細書中、吸着器内の線速度とは、吸着器内を通過する移動相の移動速度 (m/s) をいう。

【0013】一方、物質を吸着していない担体を充填したカラム (担体充填カラム) に関する性能を示す指標として、理論段数が一般に用いられる。理論段数とは、目的物質を含む溶液を担体充填カラムに通液した場合に、この担体充填カラム内に、目的物質が吸着-脱離平衡に達するために最低限必要なカラム高さが積み重ねられているものと考えた場合における、この積み重ねの数である。

【0014】吸着器の動的な吸着性能を示す上記破過曲線と担体充填カラムの性能を示す指標である上記理論段数との関係は、加藤ら (加藤滋雄ら, ジャーナル オブ ファーメンテーション アンド バイオエンジニアリング, 78巻, 246ページ (1994年)) により以下の3つの式で対応づけられている。

【0015】

【数1】

体を充填したカラムに、吸着器に通液した時と同じ流量 F で溶液を通液したときに目的物質に対して得た値であり、一定である。 t^- は、目的物質のカラム内における平均滞留時間 [秒] である。 θ は、 t^- に対する t の割合である。 α は、吸着材の吸着量の効率を示すパラメーターである。

【0019】破過曲線に及ぼす理論段数の影響を示すため、上記各式に適当な数値を入れ計算したのが、図1である。図1において、各時間 t/t^- までに吸着した吸着器単位容積あたりの吸着量 q [kg/m^3] は、破過曲線の上側の面積、つまり $\{1 - (C/C_0)\}$ をその時間まで積分し、吸着器容積で割ると得られる。上記積分を行い、 q_0 に対する吸着量 q の経時変化を示したのが図2である。図2から、担体充填カラムの理論段数が大きいほど、一定時間に吸着できる吸着量は大きくなり、また一定量を吸着するのに要する時間は短くてすむこと、つまり吸着器の動的な吸着性能が向上することが分かる。このことから、吸着器の動的な吸着性能を向上させるには、担体充填カラムにおいて理論段数を大きくするとよいことが分かる。

【0020】また、担体充填カラムの理論段数は、目的

物質が吸着-脱離平衡に達するために最低限必要なカラム高さ（理論段相当高さ）と担体充填カラム高さとして決まり、次式で表される。

【0021】

【数4】

$$N = \frac{L}{HETP}$$

【0022】ここで、L[m]は担体充填カラム高さ、HETP[m]は理論段相当高さである。カラム高さは一定であるので、担体充填カラムの理論段数を大きくするということは、充填した担体の特性である理論段相当高さを小さくすることであり、この方法により、吸着器の動的な吸着性能を向上させることができる。理論段数は容器の形状等の要因が入るのに対して、理論段相当高さは担体の性質のみに依存する特性であり、言い換えると、理論段相当高さを議論する際には、破過曲線測定の際に用いた吸着器と異なる形状の担体充填カラムを用いてもよい。ただし、担体充填カラム内での線速度は同一にする必要がある。

【0023】目的物質の物質移動が拡散のみである従来型の担体に比べて、理論段相当高さが小さくなる担体として、担体粒子の周りに流れがある時にその粒子内に貫通する流れが生じる構造を有する担体があることが知られている（N. B. アフェアンら、ジャーナル オブ クロマトグラフィー、519巻、1ページ（1990年）；加藤滋雄ら、ジャーナル オブ ファーマンティション アンド バイオエンジニアリング、78巻、246ページ（1994年））。つまり、担体粒子内を貫通する流れが生じることにより、この担体について測定される理論段相当高さが小さくなる。従って、担体粒子の周りに流れがある時にその粒子内を貫通する流れが生じる構造を有する担体に、目的物質に親和性のある物質を固定化した吸着材を充填した吸着器は、動的な吸着性能が向上する。

【0024】このような、担体粒子の周りに流れがある時にその粒子内を貫通する流れが生じる構造を有する担体として、パーセプティブ・バイオシステムズ社のクロマトグラフィー用の担体として市販されているポロス（商品名）（粒子径 $10 \times 10^{-6} \text{ m}$ 、 $20 \times 10^{-6} \text{ m}$ 、 $50 \times 10^{-6} \text{ m}$ ）（特表平4-500726）が知られている。しかし、このような担体は、クロマトグラフィー用の担体であるため、充填や通液の操作上支障ない範囲とする必要があつて、その粒子径は小さい。

【0025】

【発明が解決しようとする課題】上述のポロスのようなクロマトグラフィー用の担体を体液浄化用担体として用いるには、体液浄化方法に基づく制約のため不都合な点が多々あり、体液浄化方法に使用するのは困難である。例えば、体液である全血を、クロマトグラフィー用の粒

子径の小さい担体が充填されているカラムに、従来のような体外循環体液流量で通液した場合、血球がカラム内又はカラム入り口で詰まってしまい、溶血を引き起こしてしまう。

【0026】本発明は、このような事情に着目してなされたものであつて、吸着量を維持しつつ治療時間を短くするために、高速に目的物質を除去することができる体液浄化用吸着材を提供しようとするものである。

【0027】

【課題を解決するための手段】上記の課題を解決するために、鋭意検討した結果、本発明に至った。すなわち本発明は、体液中の目的物質に親和性のある物質を、粒子状、スラブ状又は不定形状の担体に固定化してなる体液浄化用吸着材であつて、上記担体は、その周りに体液の流れがあるとき、前記担体内を貫通する体液流が生じる構造を有する体液浄化用吸着材、この体液浄化用吸着材を充填した体液浄化用吸着器、及び、この体液浄化用吸着器を用いて体液を浄化する体液浄化方法である。

【0028】

【発明の実施の形態】以下、本発明について具体的に説明する。本発明の体液浄化用吸着材は、目的物質に親和性のある物質を担体に固定化してなるものである。本発明の体液浄化用吸着材は、担体粒子の周りに流れがあるとき、上記粒子内を貫通する流れが生じる構造を有する担体に、目的物質に親和性のある物質を固定化したものである。

【0029】担体粒子の周りに流れがあるとき、上記粒子内を貫通する流れが生じる構造を有する担体とは、担体粒子の周りに体液等の液体の流れが生じる時、その圧力勾配により、その流れの一部が担体粒子内を貫通して流れるような構造を有する担体と言う。上記担体は、充分な直径を有する貫通孔が必要である。

【0030】本発明の吸着材においては、担体粒子内を貫通する流れを生じさせて、本明細書中の従来の技術で説明した理論段相当高さを小さくするために、上記担体粒子の貫通孔の平均直径に対する上記担体粒子の平均粒子径の比は、70以下であることが好ましく、より好ましくは50以下である。

【0031】また、本発明の吸着材は体液浄化用に用いるため、溶液の線速度に関して、体液浄化方法に基づく制約がある。従って、本発明における担体は、カラムに充填して、目的物質のみを含む溶液を線速度 $1 \times 10^{-4} \text{ m/s}$ 以上、 $10 \times 10^{-4} \text{ m/s}$ 以下の範囲で通液した場合に、担体特性である上記の理論段相当高さが0.5 m以下であることが好ましく、より好ましくは0.1 m以下である。

【0032】理論段相当高さの代表的な測定法は以下の通りである。担体を充填したカラムに、目的物質をパルス的に注入し、溶出曲線を検出する。クロマトグラフィーのように理論段数が大きい場合は、溶出曲線の形状が

ガウス分布となり、理論段相当高さ (HETP) は、次式を用いて算出する。

【0033】

【数5】

$$HETP = \frac{L}{554 \left(\frac{T_r}{W_t} \right)^2}$$

【0034】ここで、L [m] は充填カラム高さ、T_r [秒] は保持時間、W_t [秒] は半値幅である。上記保持時間とは、溶出曲線のピーク頂点が検出された時間、上記半値幅とは、ピーク頂点の半分の位置の時間幅である (F. ガイス, “液体クロマトグラフィーの最適化”, 講談社, 18ページ, (1980年))。

【0035】しかし、クロマトグラフィーの場合と異なり、体液浄化用吸着材の粒子径は大きく、容器の長さには限界があり、体液浄化用吸着材を充填した容器の条件で得られる目的物質の溶出曲線は、その形状がガウス分布になることは少ない。この場合、定性的に担体の性能を示す指標として溶出曲線の形状を用いることができる。

【0036】理論段相当高さが大きく理論段数が小さい場合に該当する、物質移動が不十分な場合、目的物質の多くが担体に充分接触できないまま、容器内に充填した溶液の流れとともに溶出する。従って、担体の粒子間の空隙容積に相当する溶液が溶出し終わった直後にピークトップの位置が存在し、その後、溶出時間の増加に伴い目的物質が徐々に溶出して来る。

【0037】一方、理論段相当高さが小さく理論段数が大きい場合に該当する、物質移動が良好な場合、物質移動が良好になるに従い、目的物質が担体に接触する回数が増える。よって、容器内で目的物質が保持される時間も長くなり、担体間の空隙容積に相当する溶液が溶出し終わった直後のピークは小さくなり、ピークトップの位置も後ろに移動してくる。更には、溶出曲線の形状がガウス分布に近づいていく。

【0038】本発明においては、上記担体粒子の貫通孔の形状は、容器内の流れの一部が担体粒子内を貫通して流れさえすればよく、形、数等が限定されるものではない。例えば、断面の形状は、円形、多角形又は不定形であってよく、また、担体粒子内における貫通路は、直線状でも、曲がりくねっていてもよい。また、複数の貫通孔が存在するのが好ましく、これらの貫通孔は、例えば、同じ種類の複数の貫通孔若しくは異なる種類の複数の貫通孔が、平行に並んだ構成、又は、平行ではなくランダムな向きである構成等であってもよい。

【0039】上記担体は、その周りに体液の流れがあるときに、その担体内を貫通する体液流が生じる構造を有

するものであればよい。また、上記担体の形状は、粒子状、スラブ状、不定形状のいずれでも良いが、通液性、取り扱いの容易さ等の点から、粒子状のものが好ましい。

【0040】上記担体としては特に限定されず、例えば、貫通孔を有する多孔質体、微小粒子を集合させて粒子にしたもの、繊維を集合させて粒子にしたもの、粒子に加工して貫通孔を作成したもの等がある。また、上記微小粒子を集合させて粒子にしたもの、又は、上記繊維を集合させて粒子にしたものに使用する微小粒子若しくは繊維としては、目的物質を吸着できる小孔を有するもの、即ち、吸着できる接触面が大きいものが好ましい。上記粒子に加工して貫通孔を作成したものも、同様に、加工する以前の粒子が目的物質を吸着できる小孔を多く有するのが好ましい。

【0041】上記担体は、体液が通過する際に粒子が変形して体液の通過を妨げるような圧密が生じない強度を有するものが好ましい。

【0042】上記担体の製造方法の例としては、貫通孔を作成するために粒子を集合させる方法、繊維を集合させる方法、加工孔を作成する方法等がある。粒子及び繊維の集合方法の例としては、粒子又は繊維を生成する重合反応の間に集合させる方法、粒子又は繊維の構造を破壊することなく相互に隣接する表面だけに有機溶剤、加熱、接着剤、酸、アルカリ溶液等で処理を施すことによって相互に接着させる方法がある。凝集した粒子又は繊維の空間が貫通孔である。加工孔を作成する方法の例としては、レーザードリリング技法、溶媒浸出等がある。

【0043】上記担体の材質の例としては、セルロース、キチン、キトサン、アガロース等の天然高分子化合物；アシルセルロース、アシルキチン等の改質天然化合物；ポリスチレン、ポリメタクリル酸及びその誘導体並びにこれらの共重合体、更にはポリビニルアルコール、スチレンジビニルベンゼン共重合体等の合成高分子化合物；ガラス、アルミナ、セラミックス等の無機物等が利用される。

【0044】上記目的物質としては、低密度リボタンパク質、超低密度リボタンパク質等の動脈硬化の原因物質であるリボタンパク質；免疫グロブリン (A, D, E, G, M)、抗DNA抗体、抗アセチルコリンレセプター抗体、抗血液型抗体、抗血小板抗体等の自己抗体及び抗原抗体複合物；エンドトキシン、リウマチ因子、マクロファージ、癌組織浸潤T細胞等の目的物質が挙げられる。

【0045】上記目的物質に親和性のある物質としては、目的物質を吸着するものであれば特に限定されるものではない。目的物質に親和性のある物質と目的物質との親和力は、生物学的親和力と物理化学的親和力の2つに分類される。上記生物学的相互作用を利用した目的物質に親和性のある物質としては、抗原を固定した物質、

抗体を固定した物質、補体結合やFc結合等の生物学的相互作用を利用した物質等が挙げられる。物理的相互作用を利用した目的物質に親和性のある物質としては、静電的相互作用や疎水的相互作用を利用した物質等がある。これらのうち、原料の確保、吸着材やカラムの製造、滅菌、貯蔵、保管における活性の安定性、また、血液と接触した場合の副作用等を考慮すると、物理的相互作用を利用した目的物質に親和性のある物質が好ましい。

【0046】物理的相互作用を利用した目的物質に親和性のある物質の具体例として、低密度リボタンパク質を吸着しようとする場合には、陰性基を有する物質を用いることができる。上記陰性基を有する物質を例示すると、デキストラン硫酸、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、コンドロイチンポリ硫酸、ヘパリン硫酸、キシラン硫酸、カロニン硫酸、セルロース硫酸、キチン硫酸、キトサン硫酸、ペクチン硫酸、イヌリン硫酸、アルギン酸硫酸、グリコーゲン硫酸、ポリラクトース硫酸、カラゲニン硫酸、デンプン硫酸、ポリグルコース硫酸、ラミナラン硫酸、ガラクトラン硫酸、レバン硫酸、メバサルフェート等の硫酸化多糖；リンタングステン酸、ポリ硫酸化アネトール、ポリビニルアルコール硫酸、ポリリン酸、ポリアクリル酸等が挙げられる。この中で、特に硫酸化多糖は効果大きい。更に、臨床での実用性の点で好ましい例として、ヘパリンやデキストラン硫酸が挙げられる。

【0047】以上の陰性基を有する物質は、低密度リボタンパク質を吸着しようとする場合に用いる、物理的相互作用を利用した目的物質に親和性のある物質の例示であって、目的とする物質が変われば、陽性基及び疎水基を有して物理的相互作用を示す物質を用いることもある。また、上記の目的物質に親和性のある物質を複数固定化してもよい。なお、低密度リボタンパク質に親和性のある物質には、アニリン等も挙げられる。

【0048】上記目的物質に親和性のある物質を担体に固定化する方法として、共有結合、イオン結合、物理吸着、包埋、表面への沈殿不溶化等の公知の方法があり、目的物質に親和性のある物質と上記担体の材質により適当な方法を選択できる。滅菌時における目的物質に親和性のある物質の溶出性を考慮すると、共有結合による方法が好ましい。また、必要に応じてスペーサーを担体と目的物質に親和性のある物質との間に導入してもよい。

【0049】目的物質に親和性のある物質を共有結合により担体に固定化する際に、目的物質に親和性のある物質に対する反応性を担体にもたらす方法の例としては、ハロゲン化シアン法、エピクロルヒドリン法、ビスエボキシド法、プロモアセチルプロミド法等が知られている。以上の反応に用いられる具体的な官能基としては、アミノ基、カルボキシル基、ヒドロキシル基、チオール基、酸無水物基、サクシニルイミド基、塩素基、アルデ

ヒド基、エボキシ基、トレシル基等が挙げられる。中でも、加熱滅菌時の安定性の観点から、エピクロルヒドリン法で誘導されるエボキシ基が特に好ましい。

【0050】本発明の体液浄化用吸着材の好ましい形態としては、平均粒子径が、 $100 \times 10^{-6} \text{m}$ 以上であり、この体液浄化用吸着材を容器に充填して線速度 $3 \times 10^{-4} \text{m/s}$ 以上で通液した場合に担体粒子内を貫通する流れが生じるものである。

【0051】本発明の体液浄化用吸着材が全血と直接接する場合、血球の詰まりや動的な吸着性能を考慮すると、吸着材粒子の粒子径は、 $100 \times 10^{-6} \text{m}$ 以上、 $4000 \times 10^{-6} \text{m}$ 未満であることが好ましく、より好ましくは $100 \times 10^{-6} \text{m}$ 以上、 $600 \times 10^{-6} \text{m}$ 未満である。

【0052】体液として全血を処理する場合、血球等が通過する流路を確保するために、血漿等の液状成分を流す場合に比べて粒子径を大きくする必要がある。しかし、従来型の担体を使用した場合、粒子径が増加するに伴い拡散距離が増加してしまい、動的な吸着性能が低下する。全血処理用に従来型の大きな粒子径の担体を用いた場合、動的な吸着性能は特に不十分である。

【0053】一方、本発明の体液浄化用吸着材においては、担体が、担体粒子の周りの体液の流れに伴って担体粒子内を貫通する体液の流れが生じるものであるため、目的物質の物質移動が拡散のみであった従来型の担体に比べて、物質移動が良好となる。従って、粒子径が $100 \times 10^{-6} \text{m}$ 以上、 $4000 \times 10^{-6} \text{m}$ 未満、より好ましくは $100 \times 10^{-6} \text{m}$ 以上、 $600 \times 10^{-6} \text{m}$ 未満である本発明の体液浄化用吸着材は、全血と直接接する場合に、動的な吸着性能が特に向上する。

【0054】上述した本発明の体液浄化用吸着材を容器に充填した体液浄化用吸着器もまた、本発明に含まれる。上記吸着器の使用法は、従来の血漿灌流方式及び直接血液灌流方式に使用されている体液浄化用吸着器と同様である。体液が凝固しないように抗凝固剤を体液回路に持続注入したり、詰まり等の発生を感知するための圧力計を設けたりする等、通常の体液浄化方法に従って用いることができる。

【0055】

【実施例】以下に実施例を掲げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例にのみ限定されるものではない。

【0056】製造例1

担体粒子の調製

カルボキシメチルセルロース（和光純薬工業社製）と6規定のNaOH水溶液とを混合して、カルボキシメチルセルロースが2.9重量%の溶液を作製した。平均粒子径 $25 \times 10^{-6} \text{m}$ の多孔質のセルロース小粒子（チッソ社製）を、上記カルボキシメチルセルロースのNaOH水溶液に混入し（懸濁液体積に対する懸濁液中のセルロ

ース小粒子全体積の割合：65体積%、懸濁液重さに対するカルボキシルメチルセルロース重さの割合：1.0重量%）、攪拌しながら5時間接触させた。その後、2流体ノズル（同心円上に内ノズルと外ノズルを有するもの）の外ノズルから圧縮窒素ガスを噴出すると同時に内ノズルから上記懸濁液を凝固液である99.5%エタノール溶液に吐出し、凝固液中に捕集した。窒素ガス噴出速度は $3.3 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$ 、懸濁液の吐出速度は $1.2 \times 10^{-7} \text{ m}^3/\text{s}$ であった。内ノズルの直径が $2.6 \times 10^{-3} \text{ m}$ 、外ノズルの直径が $4.4 \times 10^{-3} \text{ m}$ の2流体ノズルを使用した。吐出高さは4mであった。得られた担体を純水で洗浄して、目開き $180 \times 10^{-6} \text{ m}$ 及び $355 \times 10^{-6} \text{ m}$ の篩を用いて湿式分級をし、平均粒子径 $256 \times 10^{-6} \text{ m}$ の担体を得た。

【0057】得られた担体内の液体をエタノールで置換してから、2-メチル-2-プロパノールで置換し凍結乾燥（Eiko Eng. Co. Ltd. 社製）させ、金を蒸着させたのち走査型電子顕微鏡（トプコン社製）で観察したところ、図3及び図5に示すように、それぞれ担体表面及び断面に、連結されたセルロース小粒子間の空隙（貫通孔）があり、また、図4及び図6に示すように、それぞれ担体表面及び断面に、小孔（吸着できる孔）も観察できた。得られた担体は、貫通孔及び吸着できる小孔を有する粒子であって、その周りに流れがあるとき粒子内に貫通する流れが生じる構造であった。

【0058】参考例1

上限線速度の測定

製造例1で得られた担体（平均粒子径 $256 \times 10^{-6} \text{ m}$ ）を内径 $10 \times 10^{-3} \text{ m}$ 、長さ $110 \times 10^{-3} \text{ m}$ のカラムに充填し、クエン酸抗凝固剤を加えた牛の新鮮血液を 37°C に保温して通血した。一定の線速度で流し、圧力損失が一定になると、更に大きい線速度に切り替えていくことで、一定の圧力損失を保つことができる上限の線速度を測定した。その結果、上限線速度は $7.32 \times 10^{-4} \text{ m/s}$ であった。

【0059】比較参考例1

上限線速度の測定

市販されているボロス（商品名）（パーセプティブ・バイオシステムズ社製、平均粒子径約 $50 \times 10^{-6} \text{ m}$ ）を用いて参考例1と同様に、牛の新鮮血液の通血において一定の圧力損失を保つことができる上限の線速度を測定した。その結果、線速度は、初期値の $0.75 \times 10^{-4} \text{ m/s}$ でも、圧力損失は一定の値にならず、上昇し続け、更には充填したカラムが血液で詰まり実験を中止した。

【0060】比較参考例2

上限線速度の測定

製造例1で使用したセルロース小粒子（平均粒子径 $25 \times 10^{-6} \text{ m}$ ）と小孔の孔径等が同一構造であって、平均粒子径がより大きい多孔質のセルロース担体（チッソ社

製、平均粒子径 $220 \times 10^{-6} \text{ m}$ ）を用いて参考例1と同様に、牛の新鮮血液の通血において一定の圧力損失を保つことができる上限の線速度を測定した。その結果、上限線速度は $5.78 \times 10^{-4} \text{ m/s}$ であった。

【0061】比較参考例1から分かるように、担体粒子の周りに流れがあるとき粒子内を貫通する流れが生じる構造を有しており、クロマトグラフィー用の担体として市販されているボロス（商品名）では、粒子径が小さく直接血液灌流は困難であった。一方、製造例1で得られた担体は、参考例1から分かるように、一定の圧力損失を保つことができる上限の線速度が大きかった。なお、通常の体液浄化方法で使用されているカラム（体積 $40 \times 10^{-6} \text{ m}^3$ 、長さ $110 \times 10^{-3} \text{ m}$ ）に、血液を $7.32 \times 10^{-4} \text{ m/s}$ で流した場合の流量は、 $2.66 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$ （ 159 ml/min ）であり、治療条件の範囲内（ $0.833 \times 10^{-6} \sim 3.33 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$ （ $50 \sim 200 \text{ ml/分}$ ））に相当する。

【0062】参考例2

溶出曲線の測定

製造例1で得られた担体（平均粒子径 $256 \times 10^{-6} \text{ m}$ 、セルロース小粒子の平均粒子径に対する担体の平均直径の比=10）を充填したカラム（内径 0.01 m 、長さ 0.20 m ）に、23.2度の生理食塩液（大塚製薬社製）を線速度約 $4.6 \times 10^{-4} \text{ m/s}$ で流し、低密度リボタンパク質試薬（SIGMA社製：L2139）を生理食塩液で5倍に希釈した溶液 $100 \times 10^{-9} \text{ m}^3$ をパルス的に注入した。溶出液中の低密度リボタンパク質の濃度の経時変化を 280 nm の波長で吸光度計測器（ATTO社製）を用いて測定した。図7にこの結果を溶出曲線として示した。横軸のs i t aは担体間の空隙容積に対する溶出量の割合を示し、縦軸のEは溶出曲線の総累積面積が1となるように変換した溶質濃度の値を示している。図7では、ピークは二つあり、一つ目のピークトップの位置は、担体間の空隙容積に相当する溶液が溶出し終わった直後（s i t a=1）で、そのピーク高さは小さかった。

【0063】なお、アルブミン（分子量6.6万）を参考例2と同様の条件下で注入した場合、ピークトップの位置はs i t a=約1.8であった。吸着の無い場合の溶出曲線におけるピークは、分子量の大きい物質から先にでてくることから、上の結果を考慮すると、分子量の大きい低密度リボタンパク質（分子量300万～500万）は、一つ目のピークであることが分かる。

【0064】比較参考例3

溶出曲線の測定

比較参考例2の担体（チッソ社製、平均粒子径 $220 \times 10^{-6} \text{ m}$ ）を用いて、参考例2と同様の条件下で低密度リボタンパク質の溶出曲線を測定した。図8にこの結果を溶出曲線として示した。一つ目のピークトップの位置は、担体間の空隙容積に相当する溶液が溶出し終わった

直後で、そのピーク高さは大きかった。

【0065】参考例2及び比較参考例3の結果より、ピーク形状は、参考例2の方が比較参考例3より、一つ目のピーク高さが小さく且つ全体的に後ろにずれていた。よって、製造例1の担体（平均粒子径 $256 \times 10^{-6} \text{m}$ ）が、比較参考例3の担体（平均粒子径 $220 \times 10^{-6} \text{m}$ ）より物質移動が良好で、性能が良いことが分かった。製造例1の担体は、平均粒子径が比較参考例3の担体より大きいにも関わらず、貫通孔があるために、担体粒子の周りに流れがある時にその粒子内を貫通する流れが生じ、担体内の低密度リボタンパク質の物質移動を速くすることができるかと推定できる。

【0066】なお、参考例2及び比較参考例3の溶出曲線において、低密度リボタンパク質のピークが、担体間の空隙容積に相当する溶液が溶出し終わった直後にでてくるのは、担体内に入ることができる小孔がないためではなく、担体の粒子径が大きいため、物質移動する距離が長く、低密度リボタンパク質が担体粒子に十分に接触できないまま、カラム内に充填した担体間の空隙を流れる流れとともにカラム出口から溶出するためである。参考例2で使用した担体を構成するセルロース小粒子（平均粒子径 $25 \times 10^{-6} \text{m}$ ）及び比較参考例3の担体（平均粒子径 $220 \times 10^{-6} \text{m}$ ）は、小孔の孔径等が同じ構造であり、低密度リボタンパク質が小孔内に入ることができるものである。この構造の小孔内に低密度リボタンパク質が入ることは、製造例1の担体を用いて実施例1及び2で低密度リボタンパク質を吸着させることにより確認した。

【0067】実施例1

製造例1で得られた担体を45℃で2時間エピクロルヒドリンと反応させ、次いで、40℃で24時間デキストラン硫酸と反応させ、デキストラン硫酸を固定化した吸着材を得た。

【0068】新鮮な人血清の液6容量に対し、沈降体積として1容量の割合になるように、上記吸着材を加え、37度で10時間振盪した後、上澄液の濃度を測定して吸着率を求めた。

吸着率〔%〕＝（原液濃度－上澄液濃度）／原液濃度×100

低密度リボタンパク質－コレステロール、高密度リボタンパク質－コレステロール、及び、アルブミンに対する吸着率はそれぞれ51%、0%及び0%であり、低密度リボタンパク質に親和性があった。

【0069】実施例2

製造例1で得た担体を45℃で2時間エピクロルヒドリンと反応させ、次いで、50℃で6時間アニリンと反応させ、アニリンを固定化した吸着材を得た。

【0070】実施例1と同様の条件下で上記吸着材における吸着率を求めた。低密度リボタンパク質－コレステロール、高密度リボタンパク質－コレステロール、及び、アルブミンに対する吸着率はそれぞれ55%、0%及び0%であり、低密度リボタンパク質に親和性があった。

【0071】実施例1及び2から、製造例1で得た担体に、目的物質に親和性のある物質を固定化したものは、吸着材として適用できることが分かった。

【0072】

【発明の効果】本発明の体液浄化用吸着材は、上述の構成からなるので、動的な吸着性能が大きく、治療時間を短くすることにより患者のクオリティオブライフを良くすることが期待できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】破過曲線に及ぼす理論段数の影響を示した図である。

【図2】 q_0 に対する吸着量の経時変化を示した図である。

【図3】製造例1で得た担体の表面を200倍に拡大した写真である。

【図4】製造例1で得た担体の表面を5000倍に拡大した写真である。

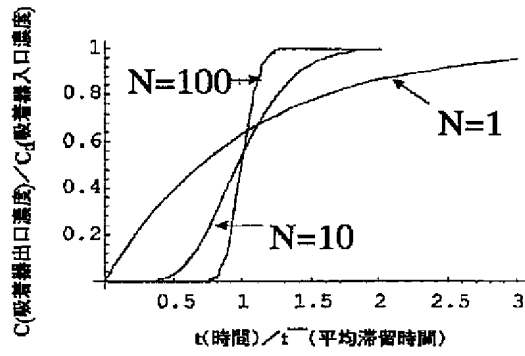
【図5】製造例1で得た担体の断面を200倍に拡大した写真である。

【図6】製造例1で得た担体の断面を5000倍に拡大した写真である。

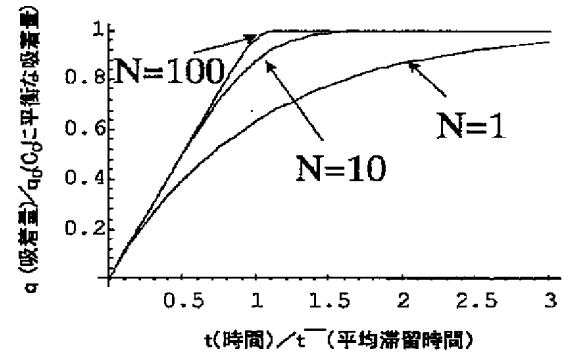
【図7】参考例2に基づく低密度リボタンパク質の溶出曲線を示した図である。

【図8】比較参考例3に基づく低密度リボタンパク質の溶出曲線を示した図である。

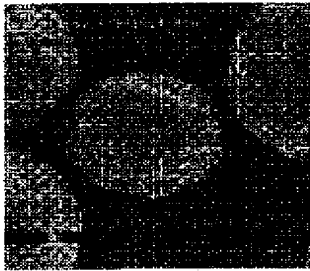
【図1】



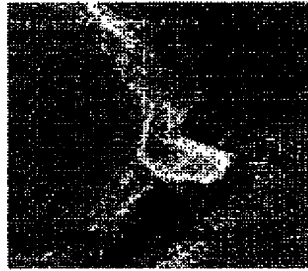
【図2】



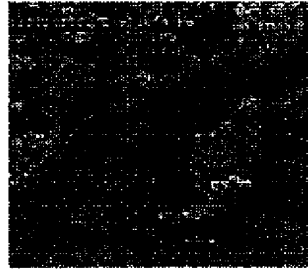
【図3】



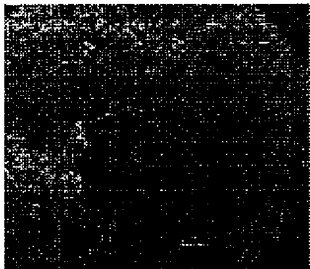
【図4】



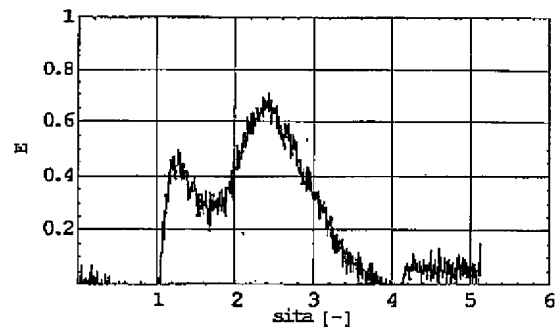
【図5】



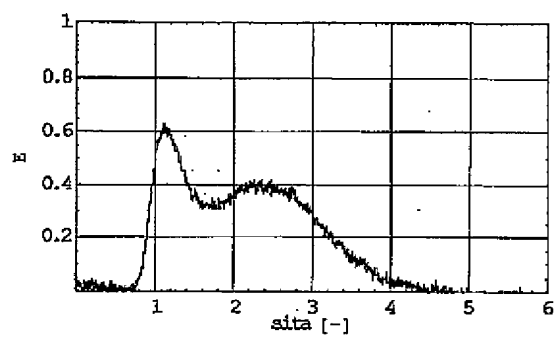
【図6】



【図7】



【図8】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁶

G01N 30/00

識別記号

F I

G01N 1/28

J